

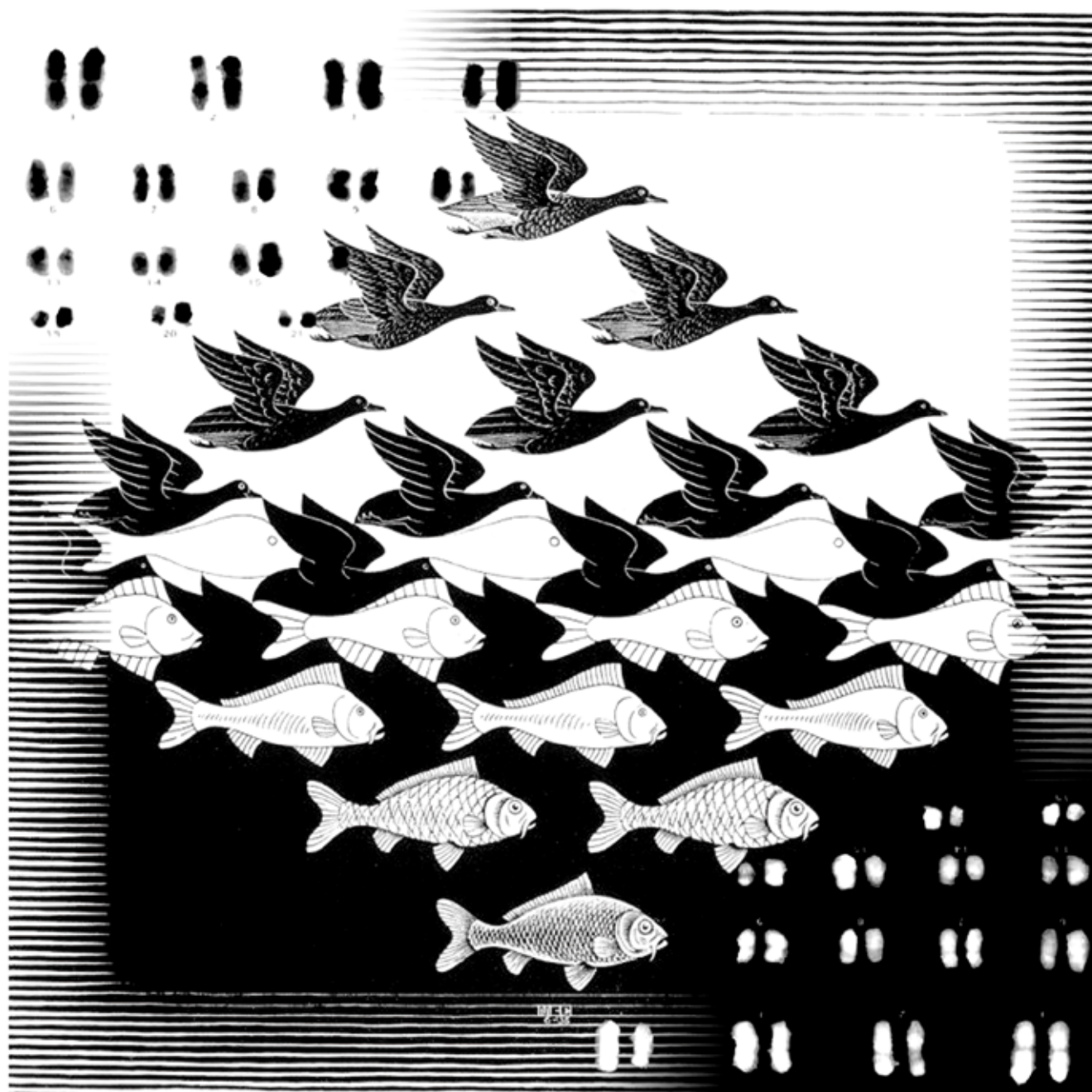
COM HAN EVOLUCIONAT ELS CROMOSOMES HUMANS?

UNA ULLADA A LA CITOGENÈTICA COMPARATIVA

Escrit per:

Aurora Ruiz-Herrera¹, Montserrat Ponsà² i Montserrat Garcia²

¹Evolutionary Genomics Group, Department of Zoology and Botany, University of Stellenbosch, South Africa, ²Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia. Universitat Autònoma de Barcelona



Escher, modificat per J. Planagumà

Entendre com i mitjançant quins processos els 46 cromosomes que caracteritzen la nostra espècie (*Homo sapiens*) han evolucionat des dels primers mamífers que van poblar el planeta sempre ha estat, i continua sent, una àrea d'interès pels científics evolutius. Des de les primeres observacions de com s'empaquetava el DNA de cada cèl·lula en diminuts "cossos acolorits" o cromosomes, als inicis del segle passat, els investigadors ja es plantejaven si en la resta de mamífers la situació era la mateixa. Des d'aquesta perspectiva, el coneixement de l'organització ancestral del genoma dels mamífers és essencial per comprendre els canvis que han donat forma als genomes de les espècies actuals, inclosa la humana.

L'organització del genoma dels mamífers placentaris (Euteris) en cromosomes segueix una arquitectura bastant senzilla que s'ha conservat durant 100 milions d'anys, cosa que suggereix, per molt sorprenent que pugui semblar a primera vista, que els nostres cromosomes no són tan diferents, per exemple, dels de l'elefant (animal que ocupa una posició basal en el procés evolutiu dels mamífers). Podem establir homologies a nivell de DNA i comprovar que els nostres cromosomes s'han mantingut com entitats físiques a través del procés evolutiu dels mamífers sense massa canvis. Els últims estudis aplicant tècniques de citogenètica clàssica i citogenètica molecular han ajudat a identificar els canvis i reorganitzacions cromosòmiques implicades en la història evolutiva de les espècies.

Des d'un punt de vista antropomòrfic podríem pensar que el cariotip humà és el més evolucionat o el més derivat des de l'avantpassat dels mamífers, però no hi ha res més lluny de la realitat. Els humans no som una espècie descendent directa de les espècies de primats no humans actuals. De fet, tots els primats descendim d'un mateix avantpassat comú, probablement morfològicament diferent de qualsevol primate modern. Per tant, el procés evolutiu no s'ha d'entendre com una escala absoluta de millora de les espècies a partir d'unes de prèvies, sinó més aviat com un procés que es desenvolupa de forma horitzontal amb múltiples ramificacions, i nosaltres, els humans, només n'ocupem una.

Des que a la dècada dels 70 es va constituir el Grup de Citogenètica Animal del Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia de la Universitat Autònoma de Barcelona, l'objectiu científic que ens vam marcar, i en el qual continuem treballant, és el d'investigar els mecanismes d'evolució cromosòmica en els mamífers, posant especial èmfasi en els primats. La caracterització citogenètica de diferents espècies, poblacions i individus i la determinació dels polimorfismes cromosòmics en les poblacions naturals de primats ens permet analitzar amb major profunditat els processos evolutius que han pogut intervenir en l'aparició dels nous grups taxonòmics així com els processos d'especiació. Això és, determinació de l'origen dels cromosomes humans, reconstrucció de filogenies, així com clarificar el possible paper que han desenvolupat les reorganitzacions cromosòmiques en l'aparició de les espècies. A través de la citogenètica comparativa podem estudiar les formes cromosòmiques que caracteritzen a les espècies actuals i, mitjançant la comparació dels seus cariotips podem fer inferències sobre els canvis cromosòmics (reorganitzacions) que s'han pogut produir durant el procés evolutiu en els diferents grups taxonòmics.



Aprofitant el cinquantenari de la determinació del nombre de cromosomes humans, l'objectiu d'aquest article no és res més que apropar al lector el fascinant món de la citogenètica comparativa dels primats des dels seus orígens per arribar a entendre com han evolucionat els cromosomes humans.

NOSALTRES, ELS PRIMATS

Els primats ens diferenciem de la resta dels mamífers per la natura no especialitzada de la nostra morfologia i la plasticitat del nostre comportament, característiques que ens han permès explotar una gran quantitat de nínxols ecològics.

L'Ordre Primats comprèn tres subordres: Prosimis, Tarsiiformes i Simiiformes (Anthrohoidea). Aquest últim subordre, els simis, es divideix al seu torn en dos grups: primats del Nou Món (Platyrrhini) i primats del Vell Món (Catarrhini) (Figura 1). L'espècie humana es troba dins d'aquest últim grup.

L'Infraordre Catarrhini inclou 19 gèneres distribuïts pel continent africà i Àsia. Dins d'aquest grup podem trobar diferents situacions, des d'espècies diferents amb el mateix nombre de cromosomes ($2n=42$ en el cas dels macacos, papios i mandrils, Figura 2), fins el cas dels hilobates (Suprafamília Hominoidea), caracteritzats per una gran variabilitat en el nombre diploide ($2n=38, 44, 50$ i 52) i a més de complexes reorganitzacions.

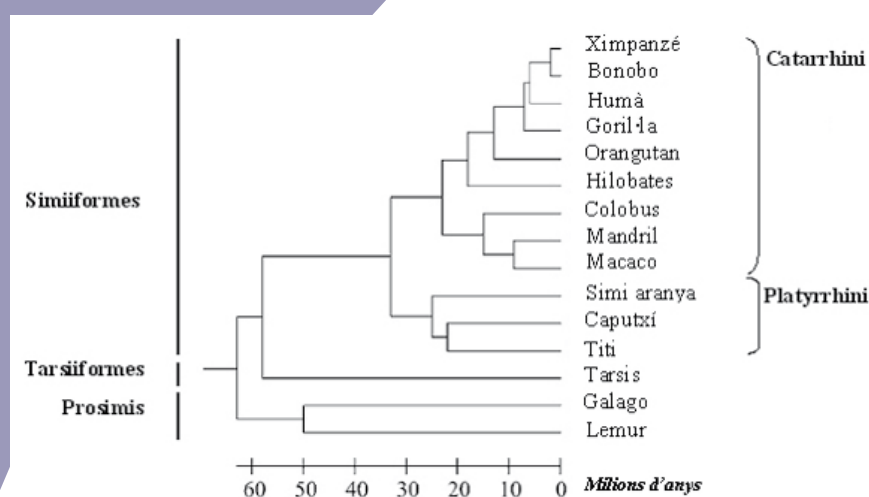


Figura 1. Arbre filogenètic dels primats

Els primats del Nou Món (Infraordre Platyrrhini) representen el grup taxonòmic que conté el major nombre d'espècies i es considera que estan en ple procés d'especiació cromosòmica. Aquest infraordre inclou al voltant de 110 espècies i 95 subespècies àmpliament distribuïdes per Amèrica Central i Amèrica del Sud (el que representa prop de la meitat de les espècies de primats existents). Aquest grup de primats es caracteritza per posseir una alta variabilitat cariotípica, no només interespecífica, sinó també intraespecífica i podem trobar-nos amb espècies amb diferències en el nombre diploide (des de $2n=16$ trobats a *Callicebus lugens* fins $2n=62$, característic del gènere *Lagothrix*).

Davant d'aquesta varietat cromosòmica, els esforços en el camp de la citogenètica comparativa s'han dirigit a comparar els cariotips de les diferents espècies per poder discernir el cariotip ancestral dels primats com a eina per entendre l'origen dels cromosomes humans i interpretar les seves morfologies actuals.

ELS PRIMERS PASSOS EN LES ANÀLISIS COMPARATIVES

L'estudi dels cromosomes dels primats i la seva evolució sempre han anat estretament lligats al desenvolupament de les tècniques de citogenètica que van perme-

tre descobrir i estudiar els cromosomes humans. La resolució definitiva del nombre de cromosomes humans, a meitat del segle passat, va estimular els estudis citogenètics experimentals i descriptius en diferents espècies de mamífers i, especialment en els primats. Tot i que l'evolució d'aquest grup de mamífers tan proper a l'home ha estat objecte de gran interès biològic des de la publicació de "The origin of man" per Darwin, els estudis cromosòmics comparatius no van ser possibles fins el desenvolupament complet de les tècniques que van permetre determinar les interrelacions entre els seus cromosomes.

Abans de la troballa de l'efecte de les solucions hipotòniques sobre les preparacions cromosòmiques, la tècnica més utilitzada en els estudis citogenètics era la tècnica d'squash (aixafament de cèl·lules en divisió) i l'únic teixit disponible per a l'estudi de cèl·lules en metafase eren les biòpsies testiculars. Durant aquesta primera etapa de la història de la citogenètica, les tècniques de cultiu de cèl·lules sanguínies o medul·lars no estaven suficientment desenvolupades per poder obtenir resultats concloents. Tot i això, durant aquest període va començar la discutida carrera per descriure el nombre de cromosomes humans conjuntament amb la descripció de cromosomes de diferents espècies de vertebrats. Van aparèixer els primers estudis citogenètics descriptius en primats, que es limitaven al recompte del nombre de cromosomes. Painter (1922) va establir per primer cop el cariotip d'un exemplar de *Cebus* sp. ($2n=54$) i més tard, Yeager i col., (1940) van descriure el nombre diploide de *Pan troglodytes* ($2n=48$) a partir de preparacions de cromosomes meiòtics.

Amb la millora dels mètodes d'obtenció de cromosomes metafàsics (perfeccionament de les metodologies de cultius cel·lulars i de la tècnica d'squash, el tractament amb colchicina i el pretractament hipotònic), es va establir definitivament el nombre de cromosomes humans en 46 (Tjio i Levan, 1956; Ford i Hamerton, 1956). Aquesta millora metodològica va permetre l'estudi i la caracterització dels cariotips d'altres espècies de mamífers, i dels primats en particular, de tal manera que aparegueren els primers treballs comparatius entre diferents espècies basats en estudis morfomètrics amb tècniques de tinció uniforme. Aquests primers estudis

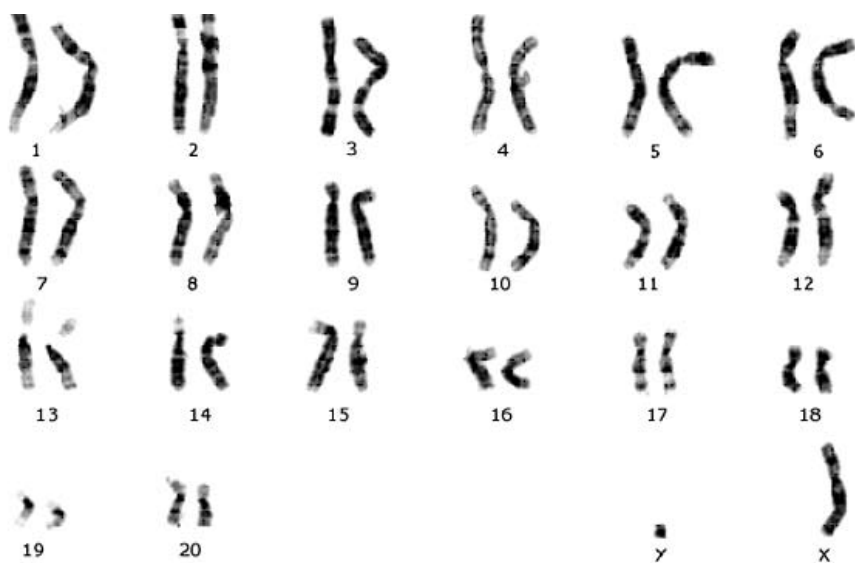


Figura 2. Cariotip del Mandril (*Mandrillus sphinx*, $2n=42$)

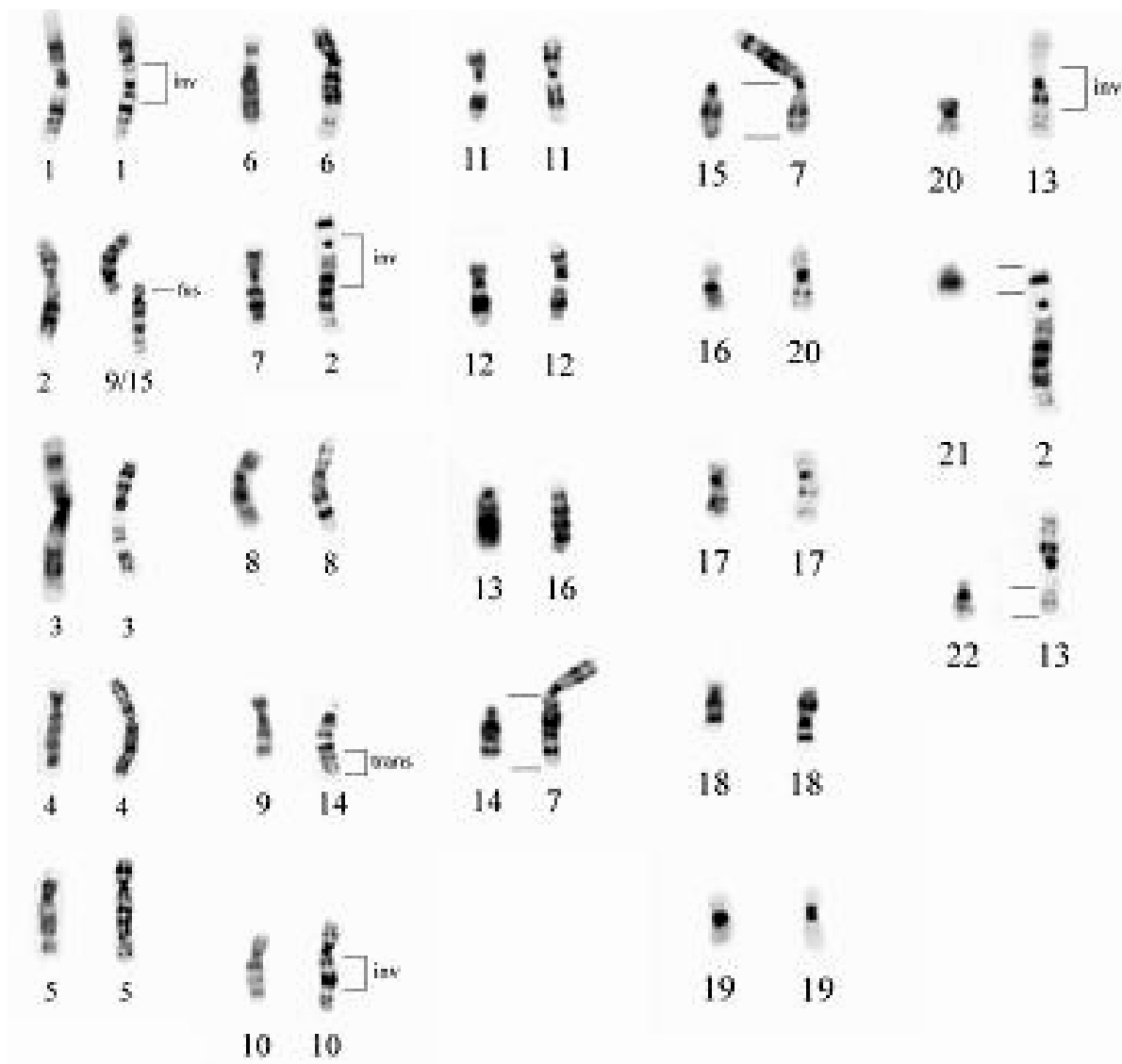


Figura 3. Comparació dels patrons de bandes entre els cromosomes humans (a l'esquerra de cada parella) i els cromosomes de *Macaca fascicularis* (a la dreta de cada parella) (Ruiz-Herrera i col., 2002, amb modificacions). Els tipus de reorganitzacions trobades són: inversions (inv), fusions (fletxa) i fissions.

comparatius ja van començar a ressaltar la gran variabilitat en el nombre diploide entre les espècies de primats estudiades, i suggerien al mateix temps alguns mecanismes implicats en el procés d'evolució cromosòmica, com són les fusions centríques i inversions pericèntriques.

A principis dels anys 70 s'inicià el desenvolupament de les tècniques de bandeig cromosòmic que van permetre la identificació i diferenciació longitudinal dels cromosomes (bandes G, Q, R), així com la localització de l'heterocromatina constitutiva i de les regions organitzadores nucleolars (bandes C i bandes NOR, respec-

tivament). Una fita remarcable d'aquesta època va ser la Conferència de París l'any 1971, en què es va decidir estandarditzar la nomenclatura dels cromosomes humans i establir un idiograma (representació diogramàtica dels patrons de bandes) del cariotip humà.

Amb els primers treballs de comparació de patró de bandes R i bandes G dels cariotips de primats de la família Hominidae (*Pongo pygmaeus*, *Pan troglodytes*, *Gorilla gorilla* i *Homo sapiens*), van començar els estudis de filogènia dels cromosomes humans (Grouchy i col., 1972; Turleau i Grouchy, 1972; Egozcue i col., 1973a,

1973b). Aquests treballs van constituir els primers intents de reconstrucció del cariotip de l'avantpassat comú dels primats homínids a la vegada que mostraven les classificacions dels cariotips del ximpanzé, goril·la i orangutan. Com a resultat, es van definir les homologies i reorganitzacions cromosòmiques necessàries per homologar les espècies susdites, la majoria de les quals segueixen sent vigents actualment. Una vegada iniciats els estudis en els homínids, a poc a poc es va anar ampliant el nombre d'espècies de primats estudiades, des d'espècies filogenèticament properes a l'home (primats del Vell Món, com *Macaca*, *Papio*, *Cercopithecus*, *Mi-*

opithecus, Erythrocebus i Presbytis) (Dutrillaux i col., 1979; Caballín i col., 1980; Ponsà i col., 1983) fins aquelles més allunyades en l'escala evolutiva (primats del Nou Món, com Cebus, Ateles, Aotus, Lagothrix i Saimiri) (Dutrillaux i col., 1978; Garcia i col., 1979; 1980).

Durant aquesta època els treballs del nostre grup es van centrar, principalment, en tres famílies de l'Infraordre Catarrhini i una de l'Infraordre Platyrrhini: F. Hominiidae (Homo, Pan, Gorilla, Pongo), F. Hylobatidae (Hylobates) i F. Cercopithecoidea (Macaca, Papio, Cercocebus, Miopithecus, Erythrocebus, Allenopithecus, Cercopithecus) en el cas dels Catarrhini, i la Família Cebidae (Saimiri, Cebus, Ateles, Lagothrix, Alouatta) en el cas dels Platyrrhini. Els estudis realitzats van revelar dos aspectes importants de la citogenètica dels primats. En primer lloc, existeixen espècies que tenen un cariotip molt estable, això vol dir que en comparar-los amb el cariotip humà veiem que són molt semblants, o el que és el mateix, són totalment homologables a través de molt poques reorganitzacions cromosòmiques (Figura 3). Aquest és el cas dels Cercopithecids que pertanyen a la tribu Papionini (Macaca, Papio i Cercocebus). En segon lloc, existeixen espècies els cromosomes de les quals presenten una gran varietat de polimorfismes (variacions en la morfologia i components estructurals dels cromosomes). Això és el que succeeix, per exemple, amb el gènere Cebus.

Per tant, amb la informació que van proporcionar les tècniques de bandeig durant els anys 70 i 80 va ser possible realitzar caracteritzacions citogenètiques més precises i estudis comparatius entre diferents espècies de mamífers. Els patrons de bandes esdevenen una característica constant a cada espècie i per tant, un instrument útil per comparar els cariotips de diferents espècies.

L'APLICACIÓ DE LES SONDES DE DNA EN LA CITOGÈNÈTICA COMPARATIVA

L'ús de les tècniques moleculars en el camp de la citogenètica comparativa ha augmentat de manera sorprenent la utilitat de les dades cromosòmiques en els estudis evolutius, ja que les homologies poden establir-se a nivell de seqüència de DNA. A finals de la dècada dels 60 van aparèixer les primeres aplicacions de les tècniques

d'hibridació in situ (ISH), desenvolupades originàriament i de forma independent per dos grups d'investigadors, Pardue i Gall (1969) i John i col., (1969). Però no va ser fins els anys 90 quan aquesta tècnica es va incorporar de manera rutinària a l'estudi dels cromosomes humans en particular i de mamífers en general, i es va demostrar que l'organització cromosòmica dels mamífers està altament conservada.

L'aplicació de la hibridació in situ fluorescent (FISH) als estudis evolutius ha generat el que actualment es denomina la genòmica comparada, això és, l'estudi de l'evolució i organització del genoma dels mamífers. Actualment és possible generar sondes de DNA de qualsevol animal i comparar les homologies intraespecífiques. En aquest sentit, la tècnica de FISH ha permès complementar les aportacions de les tècniques clàssiques de citogenètica i ha ajudat a rectificar en alguns casos i a confirmar en

d'altres, les dades obtingudes en els estudis comparatius anteriors. Mitjançant la hibridació in situ fluorescent és possible visualitzar la localització nuclear i cromosòmica de seqüències de DNA a través del microscopi d'epifluorescència. Quan les sondes de DNA corresponen a cromosomes sencers, parlem de "pintat" cromosòmic (Figura 4). Aquesta tècnica permet identificar cromosomes homòlegs entre diferents espècies així com les reorganitzacions de tipus intercromosòmic: fusions i fissions. Amb l'objectiu de superar les limitacions tècniques que comporta el pintat cromosòmic a l'hora d'estudiar les reorganitzacions intracromosòmiques, actualment s'estan desenvolupant aproximacions alternatives on es fan servir, en el mateix experiment, sondes de pintat cromosòmic subregionals o sondes clonades (YACs, BACs) marcadades amb diferents fluorocroms. D'aquesta manera és possible identificar cada cromosoma en un únic experiment. Una d'aques-

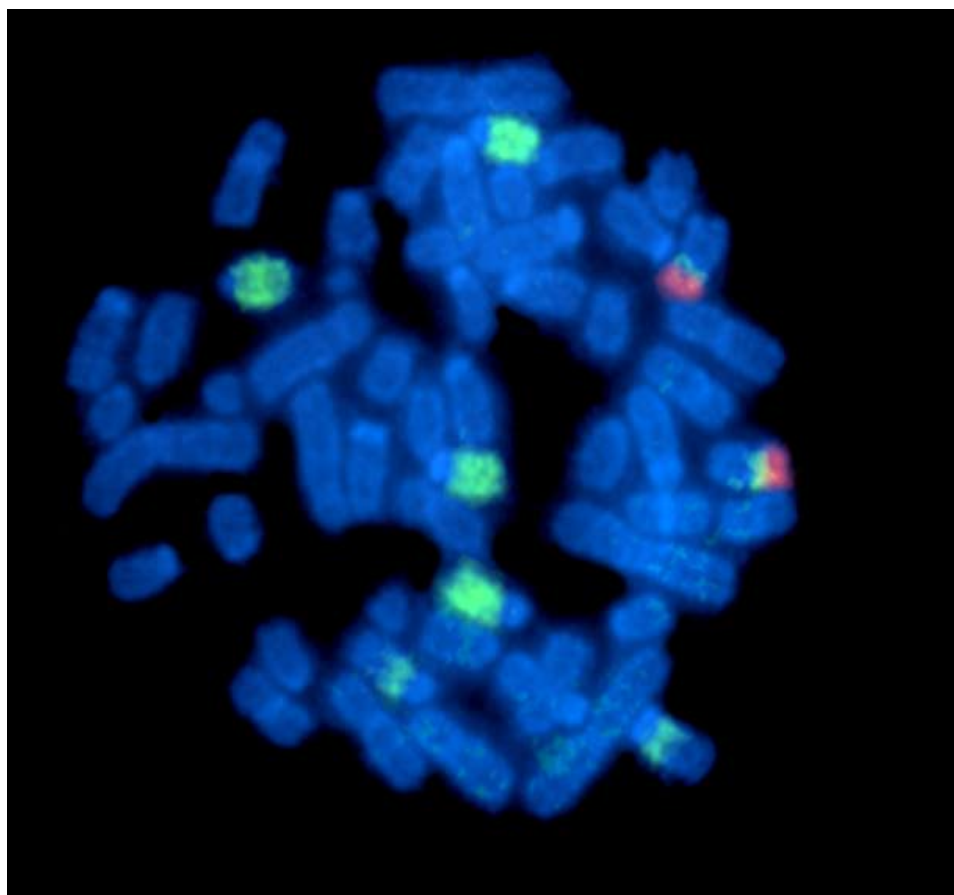


Figura 4. Hibridació "in situ" fluorescent (FISH) amb dues sondes humanes de pintat cromosòmic (cromosoma humà 3 en verd i cromosoma humà 21 en vermell) damunt d'una metafase d' *Aotus nancymai* (Platyrrhini). Aquest experiment demostra que el cromosoma 3 humà és homòleg a quatre parells de cromosomes diferents en *Aotus*, mentre que el cromosoma 21 humà hibrida amb un únic parell cromosòmic en associació amb un fragment del cromosoma 3 humà.

tes tècniques és el que es coneix com “codi de barres cromosòmic” (chromosome bar-coding), ja que el que s’aconsegueix és un patró de bandes multicolor específic per a cada cromosoma, com si es tractés d’un “codi de barres”. Aquest mètode permet la identificació ràpida dels cromosomes, així com de les reorganitzacions cromosòmiques intracromosòmiques i intercromosòmiques, de manera que és de gran utilitat en estudis de diagnòstic clínic citogenètic i estudis de genòmica comparada.

PRINCIPIS BÀSICS DE LA CITOGÈNÈTICA COMPARATIVA

Per poder entendre l’origen dels cromosomes humans i interpretar les seves morfologies actuals és necessari reconstruir l’evolució de cadascun d’ells a través de l’elaboració d’arbres filogenètics. Una de les aplicacions dels principis de l’anàlisi cromosòmica comparativa és l’establiment de filogènies mitjançant la reconstrucció de cariotips ancestrals. En l’elaboració de qualsevol cariotip ancestral s’aplica el principi de parsimònia, que postula que si existeixen dues respostes a un problema, la més “senzilla” de les dues és la més probable. L’aplicació del principi de parsimònia als estudis d’evolució cromosòmica ens indica que la reconstrucció filogenètica que requereix menys canvis (passos evolutius) és la més parsimoniosa. Partint d’aquesta premissa, si dues espècies comparteixen la mateixa forma cromosòmica o grups sintènics (segments cromosòmics homòlegs conservats), el més probable és que dita morfologia provingui d’un avantpassat “comú”. D’aquesta manera es considera que la forma cromosòmica més estesa entre les espècies analitzades és, amb major probabilitat, la forma ancestral. A través de l’anàlisi citogenètica comparativa és possible estudiar el procés evolutiu dels canvis genòmics que s’han produït dins d’un determinat grup taxonòmic, com és el cas dels primats. Al mateix temps, permet establir la natura d’aquests canvis (tipus de reorganitzacions i bandes cromosòmiques implicades), així com determinar la successió d’esdeveniments i la seva possible direcció. Per poder distingir les característiques citogenètiques (morfologies cromosòmiques) ancestrals detectades en dos o més tàxons (simplesiomòrfiques) d’aquelles derivades (apomòrfiques) es necessiten espècies que no pertanyin al grup

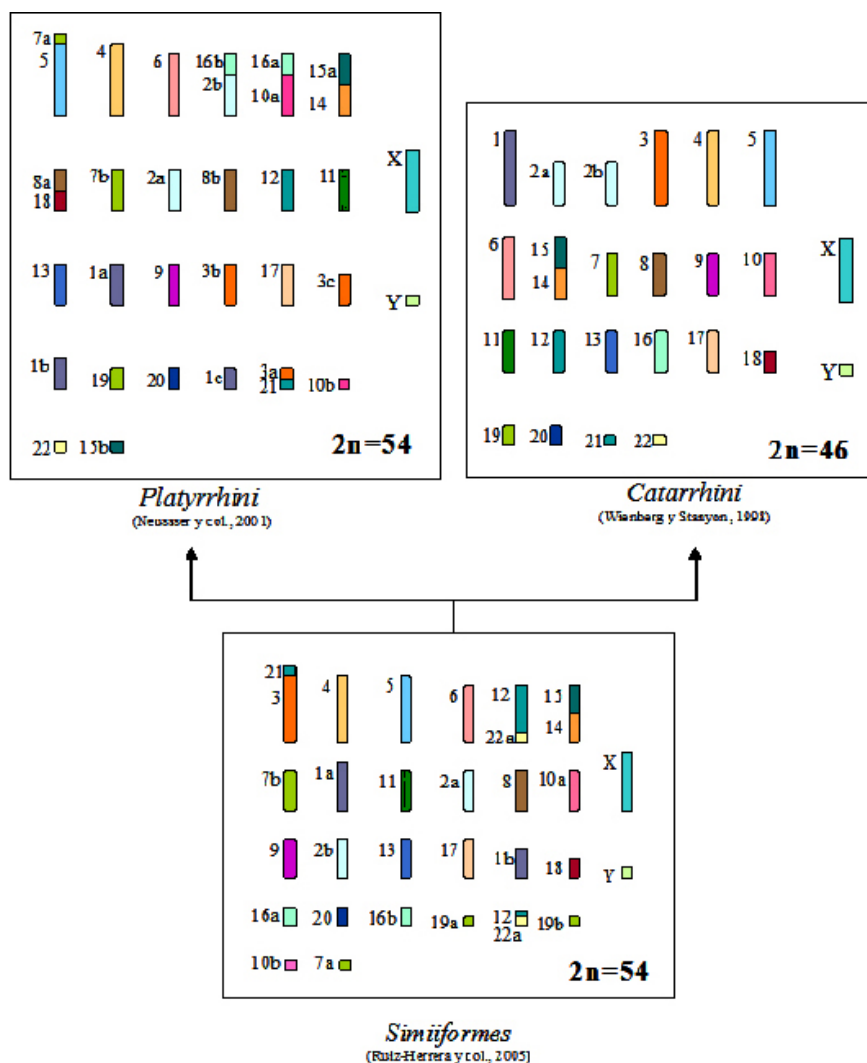


Figura 5. Representació esquemàtica dels cariotips ancestrals dels primats (Simiiformes, Platyrrhini i Catarrhini). Cada color representa les homologies amb els diferents cromosomes humans. La posició del centròmer de cada cromosoma ancestral no està indicada.

taxonòmic que s’està estudiant (outgroup) amb què poder comparar-les. Partint de la premissa que considera els canvis cromosòmics com esdeveniments poc freqüents (1-2 canvis cada 10 milions d’anys), la presència d’una mateixa reorganització o grup sintènic en diferents línies filogenètiques s’interpreta com un caràcter evolutiu procedent d’un mateix origen (formes derivades comunes o sinapomòrfiques). L’ús d’espècies no-primats com outgroup ha permès identificar la direcció dels canvis cromosòmics que s’han donat durant el procés d’especiació dels primats, així com l’elaboració del cariotip ancestral.

CARIOTIPS ANCESTRALS

L’ús de les tècniques d’hibridació in situ amb sondes de tots els cromosomes hu-

mans en diferents espècies de primats durant els últims 10 anys ha proporcionat suficient informació per poder delinear el cariotip ancestral d’aquest grup taxonòmic en general i el dels Catarrhini i Platyrrhini en particular. Actualment, es considera que el cariotip ancestral dels Simiiformes té un nombre diploide de 2n=54 i es compon dels següents cromosomes o segments cromosòmics homòlegs als cromosomes humans: 1a, 1b, 2a, 2b, 3/21, 4, 5, 6, 7a, 7b, 8, 9, 10a, 10b, 11, 12a/22a, 12b/22b, 13, 14/15, 16a, 16b, 17, 18, 19a, 19b, 20, X i Y (Ruiz-Herrera i col., 2005) (Figura 5).

Per posar un exemple, es considera que els cromosomes humans 3 i 21 es trobaven associats formant un únic cromosoma en l’avantpassat dels primats (sintènia 3/21). I el més sorprenent és que l’esmentada

sintènia es considera que estava present, fins i tot, en l'avantpassat de tots els mamífers placentaris (Yang i col., 2003). Per tant, es tracta d'un caràcter ancestral.

Gran part de les sintènies s'han mantingut intactes al cariotip ancestral dels Catarrhini (primats del Vell Món) des del cariotip ancestral dels primats i només s'han produït unes poques reorganitzacions durant l'evolució cariotípica d'aquest grup taxonòmic. Aquestes són: cinc fusions de dos cromosomes ancestrals per produir els cromosomes homòlegs als cromosomes humans 1, 7, 10, 16 i 19, una translocació recíproca entre 12/22a i 12/22b per formar els cromosomes homòlegs als cromosomes humans 12 i 22, i una fissió del grup sintènic 3/21. D'aquesta manera, el cariotip ancestral dels Catarrhini té probablement un nombre diploide de $2n=46$ i està format pels següents cromosomes o segments cromosòmics homòlegs als cromosomes humans: 1, 2a, 2b, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14/15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, X i Y (Wienberg i Stanyon, 1998) (Figura 5).

Pel que fa als Platyrrhini, els últims estudis on s'han aplicat les tècniques de pintat cromosòmic comparatiu en diverses espècies de primats del Nou Món postulen que el cariotip ancestral dels Platyrrhini tindria un nombre diploide de $2n=54$ i estaria format pels següents cromosomes o segments humans: 1a, 1b, 1c, 2a, 2b/16b, 3a/21, 3b, 3c, 4, 5/7a, 6, 7b, 8a/18, 8b, 9, 10a/16a, 11, 12, 13, 14/15a, 15b, 17, 19, 20, 21, X i Y (Neusser i col., 2001) (Figura 5).



Aurora Ruiz-Herrera Moreno

és llicenciada en biologia per la Universitat Autònoma de Barcelona i doctora en biologia cel·lular per la mateixa universitat. El seu estudi de tesi es basà en la "Implicació dels llocs fràgils i les seqüències telomèriques intracromosòmiques en l'evolució cromosòmica dels primats". Actualment treballa a l'Evolutionary Genomics Group de la Universitat d'Stellenbosch, Sud-Àfrica. Ha participat en diversos projectes internacionals, ha impartit seminaris i participat en diferents congressos. És revisora de les revistes *Genome Research* i *Chromosome Research* i ha publicat els seus resultats en diverses revistes internacionals.

REFERÈNCIES

Caballín MR, Miró R, Ponsà M, Florit F, Massa C, Egozcú J (1980) Banding patterns of the chromosomes of *Cercopithecus petaurista* (Schreber 1775): comparison with other primate species. *Folia Primatol* 34:278-285.

Dutrillaux B, Courturier J, Viegas-Pequignot E, Chauvier G, Trebbau P (1978b) Présence d'une hétérochromatine abondante dans le caryotype de deux *Cebus*: *C. capucinus* et *C. nigrivittatus*. *Ann Génét* 21:142-148.

Dutrillaux B, Biemont MC, Viegas-Pequignot E, Laurent C (1979) Comparison of the karyotypes of four *Cercopithecoidea*: *Papio papio*, *P. anubis*, *Macaca mulatta*, and *M. fascicularis*. *Cytogenet Cell Genet* 23:77-83.

Egozcú J, Aragonés J, Caballín MR, Goday C (1973a) Banding patterns of the chromosomes of man and gorilla. *Ann Génét* 16:207-210.

Egozcú J, Caballín MR, Goday C (1973b) Banding patterns of the chromosomes of man and the chimpanzee. *Humangenetik* 18:77-80.

Ford CE y Hamerton JL (1956) The chromosomes of man. *Nature* 178:1020-1023.

García M, Miró R, Ponsà M, Egozcú J (1979) Chromosomal polymorphism and somatic segregation in *Saimiri sciureus*. *Folia Primatol* 31:312-323.

García M, Miró R, Ponsà M, Egozcú J (1980) Banding patterns of the chromosomes of *Lagothrix lagotricha cana*. *Genetica* 54:181-184.

Grouchy J, Turleau C, Roubin M, Klein M (1972) Évolutions caryotypiques de l'homme et du chimpanzé. Étude comparative des topographies de bandes après dénaturation ménagée. *Ann Génét* 15:79-84.

John H, Birnstied M, Jones K (1969) RNA:DNA hybrids at the cytological level. *Nature* 223:582-587.

Neusser M, Stanyon R, Bigoni F, Wienberg J, Müller S (2001) Molecular cytogenetics of New World monkeys (Platyrrhini)-comparative analysis

of five species by multi-color chromosome painting gives evidence for a classification of *Callimico goeldii* within the family of Callitrichidae. *Cytogenet Cell Genet* 94:206-215.

Painter TS (1922) The sex chromosomes of the monkey. *Science* 56:286-287

Pardue ML y Gall JG (1969) Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 64:600-604

Ponsà M, de Boer LEM, Egozcú J (1983) Banding patterns of the chromosomes of *Presbytis cristatus pyrrhus* and *P. obscurus*. *Am J Primatol* 4:165-169.

Ruiz-Herrera A, Ponsà M, García F, Egozcú J, García M (2002) Fragile sites in human and *Macaca fascicularis* are breakpoints in chromosome evolution. *Chromosome Res* 10:33-44.

Ruiz-Herrera A, García F, Mora L, Egozcú J, Ponsà M, García M (2005) Evolutionary conserved chromosomal segments in the human karyotype are bounded by instable chromosome bands. *Cytogenet Genome Res* 108:161-174.

Tjio JH y Levan A (1956) The chromosomes number of man. *Hereditas* 42:1-6.

Turleau C y Grouchy J (1972) Caryotypes de l'homme et du chimpanzé. Comparaison de la topographie des bandes. Mécanismes évolutifs possibles. *CR Acad Sci (Paris)* 274, série D, 2355-2357.

Wienberg J y Stanyon R (1998) Comparative chromosome painting of primate genomes. *ILAR J* 39:77-91.

Yang F, Alkalaeva EZ, Perelman PL, Pardini AT, Harrison WR, O'Brien PCM, Fu B, Graphodatsky AS, Ferguson-Smith MA, Robinson TJ (2003) Reciprocal chromosome painting among human, armadillo and elephant (superorder Afrotheria) reveals the likely eutherian ancestral karyotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:1062-1066.

Yeager CH, Painter TS, Yerkes RM (1940) The chromosomes of chimpanzee. *Science* 91:74.